

LEPTOSPIROSIS, UNA REVISIÓN ACTUALIZADA

Rosario Fernández, L.A.^{1a*}; Arencibia Arrebola, D.F.^{2b*}; Batista Santiesteban, N.^{2c}; Jirón Toruño, W.^{3d}; Valdés Abreú, B.Y.^{2e}; Suárez Fernández, Y.E.^{4f}; Infante Bourzac, J.F.^{2g}. 2012. Veterinaria Argentina, 29(291).

a.-Licenciado en Microbiología, Aspirante a Investigador, Profesor Instructor, MSc. en Farmacología.

b.-Doctor en Medicina Veterinaria y Zootecnia, Aspirante a Investigador, Diplomante en Epidemiología Veterinaria, MSc. en Microbiología Veterinaria.

c.-Ingeniera Química, Aspirante a Doctor en Ciencias de la Salud.

d.-Doctor en Medicina Veterinaria, Aspirante a Doctor en Ciencias Veterinarias.

e.-Técnico Medio en Veterinaria, Técnico Tecnólogo de Primer Nivel.

f.-Doctor en Medicina Veterinaria, Profesor Titular, Doctor en Ciencias Veterinarias (PhD), Vicedecana de Postgrado e Investigación, Universidad Agraria de la Habana.

g.-Doctor en Medicina Veterinaria, Profesor e Investigador Titular, Tecnólogo y Biotecnólogo de Primer Nivel, Doctor en Ciencias Veterinarias (PhD).

1.-Instituto de Farmacia y Alimentos (IFAL-U.H). Habana, Cuba.

2.-Instituto Finlay. Habana, Cuba.

3.-Escuela de Veterinaria (UNAN). León, Nicaragua.

4.-Universidad Agraria de la Habana. Mayabeque, Cuba.

*Correspondencia a: Luis Alfredo Rosario Fernández: lrosario@ifal.uh.cu, darencibia@finlay.edu.cu

www.produccion-animal.com.ar

Volver a: [Zoonosis](#)

RESUMEN

La leptospirosis, es una de las zoonosis bacterianas más difundidas en el mundo. El agente causal de esta enfermedad es una bacteria delgada y helicoidal con una activa motilidad, las cuales se agrupan en cuatro especies saprofitas y 12 patógenas, que incluyen alrededor de 250 serovares. Debido a las afecciones que produce en el hombre y los animales, así como por su repercusión económica en los países desarrollados y en vías de desarrollo, constituye una importante y permanente preocupación para la medicina humana y veterinaria. En esta revisión actualizada damos a conocer algunos aspectos teóricos que son de importancia para futuras investigaciones en el campo de la vacunología de esta enfermedad.

Palabras clave: Leptospirosis, revisión actualizada, Leptospira, diagnóstico.

INTRODUCCIÓN

La leptospirosis, es una de las zoonosis bacterianas más difundidas en el mundo y en el (OPS, 2005; OPS, 2009). El agente causal de esta enfermedad pertenece a la familia Leptospiraceae, bacterias delgadas y helicoidales con una activa motilidad, las cuales se agrupan en cuatro especies saprofitas y 12 patógenas, que incluyen alrededor de 250 serovares (Adler y De la Peña, 2009). Debido a las afecciones que produce en el hombre y los animales, así como por su repercusión económica en los países desarrollados y en vías de desarrollo, constituye una importante y permanente preocupación para la medicina humana y veterinaria (McBride y col., 2005; Levett y col., 2006; W.H.O, 2009).

En Cuba existe un programa de lucha contra la leptospirosis que incluye la vacunación profiláctica para humanos y animales con los productos vacunales vax-SPIRAL® y Polivalente-Leptospira de los Laboratorios Biológicos Farmacéuticos (Labiofam) respectivamente (Rosario y col., 2012). Estas vacunas son de células enteras inactivadas, con o sin adyuvante, que incluyen en sus formulaciones a los serovares de mayor circulación en el país (OPS, 2009). Estos productos biofarmacéuticos cuentan entre sus principales desventajas la falta de inmunoprotección cruzada contra los serovares no incluidos en la formulación (McBride y col., 2005).

Este hecho constituye un constante desafío para los productores y comercializadores, así como para la evaluación de la eficacia de las mismas en nuevos mercados. La principal estrategia en este sentido es la determinación de la sobrevivencia de biomodelos relevantes inmunizados y luego retados con cepas altamente virulentas pertenecientes a serovares y serogrupos distintos a los presentes en la vacuna aislada del nuevo contexto epidemiológico. Igualmente, una estrategia viable para estos grupos de productores constituye la generación de formulaciones confeccionadas con cepas procedentes de la región de los nuevos clientes.

En esta revisión actualizada damos a conocer algunos aspectos teóricos que son de importancia para futuras investigaciones en el campo sobre todo de la vacunología de esta enfermedad.

DESARROLLO

ASPECTOS HISTÓRICOS

La leptospirosis es una zoonosis, causada por espiroquetas patógenas del género *Leptospira*. El espectro clínico de la enfermedad en los humanos es muy amplio y abarca desde una infección subclínica hasta un síndrome severo de infección multi-órganos, con una elevada mortalidad. Este síndrome, leptospirosis icterica con fallo renal, se describió inicialmente hace más de 100 años por Adolfo Weil, en Heidelberg (Arencibia y col., 2010). Sin embargo, varios años antes de esta fecha se había descrito un síndrome idéntico en trabajadores del alcantarillado en Europa (Adler y De la Peña, 2009) y se cuenta con descripciones precisas que datan del siglo XIX, (antes de la notificación hecha por Weil) que demuestran que la leptospirosis ya era reconocida como un riesgo ocupacional de los cultivadores de arroz en la antigua China y en Japón (Mahajan y Chhabra, 2008). El mérito indiscutible de Weil fue sin duda reconocer la leptospirosis como una nueva enfermedad, independiente de la fiebre amarilla con la cual se asoció por mucho tiempo. Este acierto lo comparte con un cubano, el Dr. Francisco Navarro y Valdés, que escribió en 1868 la primera información de esta enfermedad en su tesis de doctorado: “La fiebre biliosa grave de los países cálidos no es la fiebre amarilla”, refiriéndose a una enfermedad ictero-hemorrágica, precedida por fiebre, que padecían algunos individuos radicados en los lugares pantanosos de nuestro país en ciertas épocas del año (Navarro, 1868).

Un hecho de trascendental importancia para el conocimiento de la enfermedad fue el aislamiento del agente causal realizado por Sitmsom. Este investigador demostró, mediante una tinción con plata, la presencia de un conglomerado de leptospirosas en un corte histológico de riñón obtenido de un paciente fallecido durante una epidemia de fiebre amarilla. Las espiroquetas mostraban extremos encorvados, motivo por el cual Sitmsom las denomina “Spiroquetas interrogans” debido a su semejanza con el signo de interrogación. Sin embargo, esta importante observación fue desechada durante muchos años debido a la falta de estudios que relacionaran la patogenia con el microorganismo (Mahajan y Chhabra, 2008; Adler y De la Peña, 2009).

La etiología de la leptospirosis no fue demostrada hasta 1915 de forma independiente en Japón y Alemania (Pappas y col., 2008). En Japón, Inada e Ido detectaron la presencia de leptospirosas, así como de anticuerpos específicos contra ellas, en la sangre de mineros con el síndrome infeccioso. Paralelamente, también fue descrita por dos grupos de médicos alemanes que estudiaban soldados alemanes afectados por la “enfermedad francesa” en las trincheras del nordeste de Francia. Uhlenhuth y Fromme (Uhlenhuth y Fromme, 1915) señalaron la presencia de espiroquetas en la sangre de curieles inoculados con la sangre obtenida de soldados infectados, pero la confirmación de la ocurrencia de leptospirosis en ambos lados del frente occidental se logró después de la publicación en Europa del trabajo de Inada. Es por ello que se reconoce a este último como al verdadero descubridor del agente causal de la leptospirosis a pesar de no haber sido el primero en observarlo (Pappas y col., 2008; Adler y De la Peña, 2009). Aunque han transcurrido casi 100 años de su descubrimiento, la leptospirosis constituye una de las enfermedades más desatendidas, causante de un alto número de muertes cada año, al punto de constituir la zoonosis de mayor distribución mundial.

TAXONOMÍA Y CLASIFICACIÓN

Las especies de *Leptospira* se ubican en el orden Spirochaetales, familia Leptospiraceae y en el género *Leptospira*. Este género comprende dos especies fenotípicas: *L. interrogans*, que agrupa a leptospirosas patógenas y *L. biflexa*, microorganismos de vida libre que se encuentran fundamentalmente en las aguas superficiales (Cachay y Vinetz, 2005). A diferencia de *L. interrogans*, las cepas de *L. biflexa* no se asocian con infecciones en los humanos o animales y son avirulentas en los animales de laboratorio (Cachay y Vinetz, 2005; Pappas y col., 2008).

Por debajo del nivel de especie, tanto *L. interrogans* como *L. biflexa*, se clasifican en serogrupos y serovares, atendiendo a sus características serológicas (Levett, 2001). Los serogrupos contienen los serovares antigénicamente relacionados y se conocen 24 serogrupos para las cepas patógenas. La lista de los serovares se actualiza periódicamente, y recientemente se han descrito dos nuevos serovares patógenos (Corney y col., 2008; Valverde y col., 2008). La identificación de los serovares es esencial para el entendimiento de la epidemiología de esta enfermedad pero depende de la disponibilidad de anticuerpos monoclonales (AcM). El uso de estos posibilita hacer de forma rápida, mediante microaglutinación, la identificación de las cepas hasta el nivel de serovar (Silva y col., 2009).

En la actualidad, además de la clasificación fenotípica, existe la tipificación genética, sin existir relación directa o correspondencia entre ambas (Silva y col., 2009). La caracterización genética mediante la hibridación ADN-ADN permite la división del género en 20 especies genómicas diferentes o genomo-especies (Levett y col., 2006; ICSP, 2008; Slack y col., 2008; Slack y col., 2009; Ko y col., 2009). Debido a la falta de correspondencia entre ambas clasificaciones (fenotípica y genética), existen especies genómicas que incluyen serovares patógenos y no patógenos, así como serovares incluidos en más de una especie genómica. De esta forma, la especie genómica es típica de la cepa y ningún serogrupo o serovar predice la especie genómica a la cual pertenecerá una cepa en cuestión (Levett, 2001; Silva y col., 2008).

En la reunión del Subcomité de Taxonomía de *Leptospira* del 2007, desarrollada en Quito, Ecuador, se decide dar el estatus de especies a las genoma-especies 1, 3, 4 y 5, (descritas previamente) resultando en un género que comprende 13 especies patógenas de *Leptospira* con más de 260 serovares y seis especies saprófitas con más de 60 serovares (Silva y col., 2009; Adler y De la Peña, 2009).

BIOLOGÍA DE LAS LEPTOSPIRAS

Las leptospiras son bacterias muy finas, de 6 a 20 μm de largo y 0,1 a 0,2 μm de ancho aproximadamente. Son flexibles, helicoidales y en el caso de las patógenas se observan extremidades encorvadas en forma de gancho (Sandow y Ramírez, 2005; Adler y De la Peña, 2009). Poseen dos filamentos axiales (flagelos periplasmáticos) constituido por dos proteínas conocidas como FlaA y FlaB, con inserciones polares que se localizan en el espacio periplasmático y son las estructuras responsables de la motilidad (Ko y col., 2009; Guerra, 2009). Las leptospiras son móviles y exhiben dos formas distintas de movimiento traslación y rotación (Ko y col., 2009; Guerra, 2009).

Desde el punto de vista morfológico, todas las leptospiras son indistinguibles, aunque su morfología en aislamientos individuales varía con el subcultivo *in vitro* y puede restaurarse mediante el pase por biomodelos (Reis y col., 2008). Las leptospiras tienen una estructura típica de doble membrana: la membrana citoplasmática y la pared celular del peptidoglicano, ambas asociadas y recubiertas por una membrana externa (Silva y col., 2009; Adler y De la Peña, 2009). Dentro de la membrana externa, el LPS constituye su antígeno principal, el mismo posee una estructura y propiedades antigénicas semejantes al LPS descrito en las bacterias gram-negativas. No obstante, es relativamente no toxigénico en las células o animales, siendo 12 veces menos letal para los ratones que el LPS de *Escherichia coli* (Palaniappan y col., 2007) y menos activo en las pruebas estándares para la actividad endotóxica, como la prueba de pirogenicidad en conejo, letalidad en ratón, reacción de Schwartzman y mitogenicidad de las células B (Silva y col., 2008). Además el lípido A de las leptospiras contiene algunos rasgos inusuales, estos incluyen una unidad de disacárido de glucosamina modificada (fosforilada y metilada) (Que y col., 2004).

Además del LPS, proteínas estructurales y funcionales forman parte de la membrana externa de estos microorganismos. Tres clases de proteínas de membrana externa (PME) se han identificado: 1) las lipoproteínas, que son la clase más abundante y comprenden LipL32, LipL41, LipL48, LipL36, LipL21 (Xue y col., 2009), Qlp42 (Xue y col., 2009; Ko y col., 2009; Adler y De la Peña, 2009); 2) la proteína de transmembrana OmpL1 (Dong y col., 2008) y 3) las proteínas periféricas como LipL45 (Matsunaga y col., 2002). También el sistema de secreción tipo dos (T2SS) el cual secreta GspD se localiza en la membrana externa y muestra propiedades antigénicas (Xue y col., 2009).

Las leptospiras son microorganismos aerobios obligados, con una temperatura óptima de crecimiento entre 28-30°C y catalasa-oxidasa positivos. Crecen en medios simples enriquecidos con factores de crecimiento (vitaminas B1 y B12), ácidos grasos de cadena larga y sales de amonio (Faine y col., 1999; Xue y col., 2009; Adler y De la Peña, 2009; Adler y De la Peña, 2010). Los ácidos grasos de cadena larga, se utilizan como única fuente de carbono y son metabolizados por β -oxidación (Faine y col., 1999; Xue y col., 2009; Adler y De la Peña, 2009; Adler y De la Peña, 2010). Para su crecimiento, requieren medios que contengan suero o albúmina y entre los mismos los medios líquidos enriquecidos con suero de conejo más comunes son: Fletcher, Korthoff, Noguchi y Stuart (Faine y col., 1999; Xue y col., 2009; Adler y De la Peña, 2009; Adler y De la Peña, 2010).

Actualmente, el medio más utilizado es el Tween 80-albúmina, también conocido por las iniciales de sus autores Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris (EMJH), compuesto por ácido oleico, albúmina de suero bovino y polisorbato (Tween). El crecimiento de los contaminantes presentes en las muestras clínicas se inhibe con la adición al medio de: 5-fluorouracilo, gentamicina, ácido nalidíxico o rifampicina (Faine y col., 1999). El crecimiento de estos microorganismos es lento después del aislamiento primario, debiéndose mantener incubados durante aproximadamente 13 semanas antes de descartar un cultivo como negativo. A los medios se les puede agregar agar en pequeñas concentraciones (0,1-0,2 %) para generar medios semisólidos, en los que el crecimiento de las leptospiras alcanza su máxima densidad en una zona discreta bajo la superficie del medio, que llega a ser intensamente turbia con los beneficios de la incubación. Este crecimiento se relaciona con la tensión óptima de oxígeno y se le denomina “anillo o disco Dinger” (Adler y De la Peña, 2010). Los cultivos de las leptospiras a corto plazo se mantienen fundamentalmente mediante subcultivos repetitivos en agar semisólido con hemoglobina y a largo plazo el método de elección para mantener la virulencia es el almacenamiento en nitrógeno líquido (Borrero y col., 2006; Adler y De la Peña, 2010). Las leptospiras pueden sobrevivir largo tiempo en el agua o ambientes húmedos, templados y con un pH neutro o ligeramente alcalino.

PATOGENIA

Las leptospiras penetran en el hombre a través de la piel erosionada, las mucosas sanas y de la piel intacta después de una inmersión prolongada en agua (Asuthkar y col., 2007; Ayanegui y col., 2007; Adler y De la Peña, 2009; Adler y De la Peña, 2010). Después de entrar al organismo, difunden con rapidez y transcurridas las prime-

ras 48 h pueden alcanzar todos los tejidos, con una localización especial en riñón, hígado, corazón, músculos esqueléticos y pulmón (Marotto y col., 2010). Estos microorganismos son resistentes a la actividad bactericida del suero normal y en ausencia de anticuerpos específicos no son fagocitados ni destruidos por los polimorfonucleares o macrófagos (Choy y col., 2007; Chierakul y col., 2008). La leptospirosis puede considerarse una enfermedad sistémica, entidad que se traduce principalmente como una vasculitis infecciosa donde predomina la lesión vascular de tipo capilar, daño responsable del edema y la diátesis hemorrágica, que afecta fundamentalmente a los capilares del hígado, del pulmón y el riñón (Rocha y col., 2010).

El gran daño tisular, en presencia de pocos microorganismos, sugiere la mediación de factores tóxicos de la espiroqueta y del huésped (Asuthkar y col., 2007; Ayanegui-Alcerreca y col., 2007; Adler y De la Peña, 2009). Además, la pobreza de alteraciones patológicas en determinados órganos, a pesar de los profundos disturbios funcionales, hace pensar que muchos de los aspectos de la enfermedad son ocasionados por productos tóxicos liberados por el germen. Durante la fase aguda, la migración de bacterias, toxinas, enzimas o productos antigénicos liberados a través de la lisis bacteriana conducen a una permeabilidad vascular aumentada, manifestación más precoz y constante de la enfermedad. Las lesiones celulares de los diversos órganos tienen como base patogénica estos mismos factores que actúan inicialmente sobre la membrana celular, adicionada a una eventual hipoxemia derivada del daño vascular (Silva y col., 2008).

Sin embargo hasta la actualidad no existe evidencia de una toxina clásica secretada por las leptospiras; de hecho, en los riñones de curieles infectados experimentalmente, el daño endotelial está asociado con la presencia de células remanentes de leptospiras (Silva y col., 2008). En cambio se ha demostrado que parte de la habilidad de estos microorganismos para invadir las células Vero e inducir la apoptosis en los macrófagos se correlaciona con su virulencia (Xue y col., 2009; Adler y De la Peña, 2010).

La respuesta inmune está implicada en la patogénesis de la leptospirosis a través de la formación de inmunocomplejos, la liberación de citoquinas y la generación de una vasculitis autoinmune (Cinco y col., 2006). Así, los signos y síntomas del compromiso pulmonar, renal y hepático, aparecen en la fase inmune cuando las aglutininas específicas comienzan a detectarse. En consonancia, los resultados de investigaciones clínicas realizadas en Brasil sugieren que la gravedad de la leptospirosis podría relacionarse con la intensidad de la respuesta inmune (Malajov y col., 2007).

Los estudios comparativos de biología molecular, entre cepas patógenas y saprófitas, han develado un alto número de factores de virulencia implicados activamente en la patogenia generada por este microorganismo (Hung y col., 2006; Hoke y col., 2008). Entre ellos se destacan enzimas con actividad como hemolisinas, fosfolipasas, catalasas, hialuronidasas y colagenasas (Xue y col., 2009). El primer factor de virulencia genéticamente definido en las leptospiras fue la lipoproteína de superficie Loa22 con dominio OmpA (Ristow y col., 2007) cuya función aún se desconoce. Recientemente también se identificó el gen hemO, que codifica una hemo-oxigenasa (Murray y col., 2008) involucrada en la virulencia en hámsteres, aunque no es esencial para el microorganismo (Murray y col., 2009).

Un hallazgo similar parece aplicar para las proteínas Lig expuestas en la superficie; ellas sólo están presentes en las especies patógenas y su expresión se pierde en los subcultivos, con la consiguiente pérdida de la virulencia (Xue y col., 2009). Tanto LigA como LigB enlazan la fibronectina, y su expresión es regulada bajo condiciones de osmolaridad fisiológica (Choy y col., 2007). Sin embargo, la inactivación de LigB no afecta la virulencia en hámsteres (Croda y col., 2008).

Resultados como estos conducen a los investigadores a plantear que existe un alto grado de redundancia de proteínas de leptospiras involucradas en la adherencia, supervivencia in vivo y la colonización renal, sugiriendo que será difícil identificar y definir los factores de virulencia responsables de la patogenia (Bulach y col., 2006; Hoke y col., 2008; Picardeau y col., 2008).

MODELOS ANIMALES UTILIZADOS PARA ESTUDIAR LA LEPTOSPIROSIS

Al ser una enfermedad zoonótica que ataca a casi todos los mamíferos, la leptospirosis y su evolución patológica han sido estudiadas en una gran variedad de especies animales de interés para el hombre. Sin embargo, existen modelos animales de laboratorio que han sido utilizados con frecuencia por los investigadores para el estudio de la patogénesis de la enfermedad, la evolución de la inmunogenicidad, inocuidad y capacidad protectora de preparados vacunales, y la expresión in vivo de antígenos relevantes. Hámsteres (Silva y col., 2008), curieles (Oliva y col., 1998; Malajov y col., 2007), ratones jóvenes inmunodeprimidos (Adler y De la Peña, 2010), gerbils (Branger y col., 2001) y ratas (Athanzio y col., 2008) han sido muy utilizados para estos fines, pero es sin dudas el Hámster Sirio (*Mesocricetus auratus*) el modelo animal más empleado. Los hámsteres son considerados los animales de laboratorio más susceptibles a la leptospirosis (Oliva y col., 1998). Estos animales además de reproducir con gran fidelidad el proceso clínico patológico de la leptospirosis humana, tienen como ventaja que desde el punto de vista experimental son muy bien conocidas sus características biológicas y los aspectos sanitarios, todo lo cual facilita su manejo (Oliva y col., 1998; Silva y col., 2008).

INMUNIDAD

Está bien documentado que el desarrollo de una respuesta inmune humoral durante la leptospirosis es importante para la resistencia a la infección (Levett, 2001). Dicha inmunidad parece depender de la producción de anticuerpos aglutinantes y opsonicos, ambos dirigidos contra los determinantes antigénicos serovar o serogrupo específicos (Silva y col., 2008). La inmunidad pasiva puede ser conferida solamente por anticuerpos (Adler y De la Peña, 2009), aunque se reconoce también el papel de la respuesta inmune mediada por células (Adler y De la Peña, 2010).

Hasta hace algunos años todos los antígenos protectores que se habían logrado identificar eran de naturaleza glicolípida. Aunque los identificaron de diferentes formas (F4, TM, PE, Pag, LLS, LPS), está claro que todos se derivan del LPS de *Leptospira* y presentan características distintivas en cuanto a su actividad biológica y endotóxica. La protección conferida por estos lipopolisacáridos es serovar específica y muchos de los genes relacionados con su biosíntesis ya han sido dilucidados (Yang y col., 2006; Xue y col., 2009).

Se piensa que entre los componentes de la membrana externa del patógeno, el LPS es la biomolécula capaz de inducir una respuesta inmune protectora en las vacunas de células enteras de leptospirosis aplicadas en los animales domésticos y en los humanos (Nally y col., 2005). Se señala también, que algunas proteínas de esta membrana son capaces de potenciar la respuesta al LPS, induciendo niveles superiores de protección en los hámsteres (Xue y col., 2009; Adler y De la Peña, 2010). En contraste con el LPS, se cree que estas proteínas están conservadas entre los diferentes serovares (Biswas y col., 2005). Por esta razón, hay un intenso interés en ellas, para el desarrollo de pruebas serodiagnósticas confiables, y la obtención de vacunas efectivas para la protección contra los riesgos individuales (Sehgal, 2006; Nachega y col., 2007; Wang y col., 2007).

No es hasta el año 1994 que se describen tres clases de PME que actúan como antígenos protectores: proteínas de transmembrana, lipoproteínas y las proteínas periféricas (Palaniappan y col., 2007; Xue y col., 2009). Estas proteínas interactúan con el sistema inmune del hospedero y son blancos de anticuerpos aglutinantes, opsonicos y fijadores de complemento, fundamentalmente del tipo IgG (Stevenson y col., 2007; Vivian y col., 2009). OmpL1, una de las que primero se describe, parece tener al menos 10 segmentos de transmembrana, los que posiblemente son responsables de su movilidad electroforética (Maneewatch y col., 2007). En cambio Omp52 de 52,6 kDa, posee un dominio consenso OmpA C-terminal y, al parecer, interviene en la interacción entre la célula hospedera y el patógeno, durante la infección (Hsieh y col., 2005).

La segunda clase de PME (lipoproteínas) se encuentra anclada a la envoltura externa por ácidos grasos unidos a una cisteína amino terminal, y se estima que existan al menos cinco en la membrana externa. Un estudio reciente sobre la identificación del conjunto de PMEs existentes en la célula bacteriana, detecta que este conjunto está constituido principalmente, por un pequeño número de proteínas ya caracterizadas, en el siguiente orden relativo de abundancia: LipL32 > LipL21 > LipL41 > LipL45 > LipL48. De ellas, sólo LipL32 no ha sido identificada como una proteína expuesta en la superficie (Xue y col., 2009; Adler y De la Peña, 2009; Adler y De la Peña, 2010).

Es bien conocido que LipL32, es la más notable en el perfil proteico y que es un antígeno inmunodominante durante la leptospirosis humana. Además, se ha mostrado que LipL32 induce una significativa protección contra el reto en el modelo Hámsters Sirio (Seixas y col., 2007). De LipL41 se conoce que provee inmunoprotección sinérgica con OmpL1, lo que las hace candidatos potenciales para una vacuna (Feng y col., 2009). Otras lipoproteínas se describen en la literatura como Q1p42 y LipL36, expresada *in vitro*, pero no *in vivo* y Loa22, localizada en la envoltura externa de las cepas patógenas, y asociada con la virulencia (Batista y col., 2011).

De las PMEs del tercer grupo (proteínas periféricas), se sabe que P31LipL45 se exporta como una lipoproteína de 45 kDa y se procesa en la forma de 31 kDa C-terminal que se asocia con la envoltura externa (Adler y De la Peña, 2010). En general, las PMEs son proteínas inmunogénicas asociadas con las cepas patógenas de *Leptospira* y los anticuerpos que se enlazan a ellas son útiles para el diagnóstico de la leptospirosis (Turhan y col., 2006; Guerra, 2009). Estas proteínas son capaces de inducir una respuesta inmune contra las leptospirosis patógenas, respuesta comparable con la inducida frente a una inmunización con células completas (Xue y col., 2009; Adler y De la Peña, 2009; Adler y De la Peña, 2010; Deanna y col., 2011) y además previenen la infección renal (Hung y col., 2006). Además, se reconoce que algunas de ellas son género específica (Adler y De la Peña, 2010; Deanna y col., 2011) y están involucradas en la infección, transmisión, virulencia, supervivencia y adaptación a las condiciones ambientales de *Leptospira* (Matsunaga y col., 2007; Stevenson y col., 2007).

No obstante, hay que señalar que las nuevas investigaciones sugieren que no sólo la membrana externa es atractiva desde el punto de vista inmunológico, sino que también la membrana interna podría tener dianas de interés inmunológico, por contener elementos relacionados, al parecer, con la virulencia. Tal es el caso de la llamada Lag42, proteína de 42 kDa, cuya localización del gen que la codifica se conserva entre las leptospirosis patógenas y no entre las no patógenas (Hung y col., 2006; Palaniappan y col., 2007). Además, en la membrana interna ha sido descrita la expresión de la lipoproteína LipL31 y de la proteína de transmembrana ImpL63 (Trueba y col., 2004).

Otros antígenos inmunodominantes son las proteínas citoplasmáticas de shock térmico: GroEL (64, 70, 14 y 15 kDa) y DnaK (76 kDa). Estas proteínas “chaperonas” incrementan significativamente su expresión a elevadas temperaturas del hospedero (Ballard y col., 1998). Estas proteínas son reconocidas por el suero de pacientes con leptospirosis, tanto en la fase aguda como durante la convalecencia (Nally y col., 2005; Nally y col., 2007; Murray y col., 2009a).

Otro antígeno inmunodominante, reconocido por el suero de pacientes convalecientes y de vacunados, son las proteínas flagelares de 35-36 kD. La mayoría de estos antígenos proteicos, a diferencia del LPS, están conservados entre las diferentes serovariedades patógenas de *Leptospira*. En los últimos años, ellos se han asociado al establecimiento de una inmunidad cruzada entre serogrupos diferentes (Maneewatch y col., 2007; Naranjo y col., 2008; Adler y De la Peña, 2010).

Como consenso general en la actualidad se acepta que la inmunidad contra leptospirosis varía entre las diferentes especies pudiendo ser predominantemente humoral (humanos) o celular (bovinos) en función de la cepa que esté produciendo la infección (Maneewatch y col., 2007; Adler y De la Peña, 2010). Además la protección generada contra esta puede ser serovar/serogrupo específica cuando está dirigida al LPS o cruzada cuando se dirige contra proteínas conservadas dentro del género. El antígeno más inmunodominante es el LPS y los anticuerpos específicos contra este no perduran por mucho tiempo siendo fundamentalmente del tipo IgM (Maneewatch y col., 2007). El principal mecanismo de evasión del patógeno se basa en su alta invasividad, siendo capaz de multiplicarse en diferentes órganos antes que el hospedero genere una respuesta efectiva para eliminarlo. A este elemento se suma la baja densidad proteica en la superficie celular respecto a otras moléculas como el LPS así como la redundancia genética respecto a los factores de virulencia.

DIAGNÓSTICO DE LA LEPTOSPIROSIS

La leptospirosis frecuentemente se presenta con un amplio rango de formas clínicas y por consiguiente, la presunción de la enfermedad es habitualmente difícil. Esta particularidad tiene como consecuencia la necesidad desarrollar diferentes estrategias diagnósticas rápidas, sensibles y específicas, ya que se ha demostrado que el éxito del tratamiento está positivamente correlacionado con un diagnóstico precoz (Palaniappan y col., 2007; Reis y col., 2008).

En el caso de la leptospirosis se señala que su presentación clínica es muy similar a otras enfermedades, por lo que se hace necesario la identificación del agente etiológico o la detección de sus anticuerpos en los enfermos, requiriendo un diagnóstico rápido (Stoddard y col., 2009; Brett y Lipnick, 2009), sencillo y con alta sensibilidad y especificidad para lo cual es recomendable utilizar una combinación de técnicas diagnósticas y otras pruebas capaces de detectar la presencia de leptospirosis en tejidos y fluidos corporales (Stoddard y col., 2009; Brett y Lipnick, 2009).

El diagnóstico veterinario de la leptospirosis se realiza por dos métodos: a) directo: mediante el aislamiento del agente etiológico en medios de cultivo a partir de las muestras de sangre, líquido cefalorraquídeo, orina y de otros fluidos y tejidos del animal según la fase de la enfermedad en la que se tomen las mismas e b) indirecto: revelando la seroconversión o aumento del título de anticuerpos, utilizando para ello la técnica de microaglutinación (MAT), ambas de referencia internacional y que han demostrado tener alta sensibilidad y especificidad. (Lewett y col., 2006; Adler y De la Peña, 2009; Adler y De la Peña, 2010). En este sentido también se ha reportado la técnica de aglutinación macroscópica con antígeno termorresistente para tamizaje epidemiológico (Vanasco y col., 2000).

De manera más específica la Sociedad Internacional de Leptospirosis, en su guía para el diagnóstico recomienda la demostración del agente mediante métodos directos a partir de muestras de sangre, orina, leche y en suspensiones de tejido de riñón, médula ósea e hígado de animales afectados realizando el cultivo en agar semisólido de Fletcher y en el caldo EMJH (Ellinghausen, Mc Cullough, Jonson, Harris) (Terpstra y col., 2006), las leptospirosis pueden observarse microscópicamente utilizando la Tinción de Giemsa y Rojo Congo y el método de la inmunofluorescencia directa mediante un conjugado de isocianato de fluoresceína (Terpstra y col., 2006). La Microscopía de Campo Oscuro es la técnica de observación directa empleada más efectiva para comprobar el crecimiento de leptospirosis obtenidas de un cultivo (Vijayachari y Sehgal, 2006).

Los métodos indirectos se fundamentan en la demostración de los anticuerpos sanguíneos IgM y IgG como respuesta primaria mediante la co-aglutinación empleando varios serovares debido al mosaico antigénico de superficie del género *Leptospira* (Brihuega, 2008), por lo que se debe utilizar el test de microaglutinación (MAT) como prueba estándar por la OIE.

DIAGNÓSTICO ANATOMOPATOLÓGICO

Feraud y col., (2006) identifican la leptospirosis como una enfermedad de curso agudo y crónico caracterizada por ictero, aborto en todas las especies y cambios anatomopatológicos variables por especie aunque generalmente se produce una nefritis intersticial (Adler y De la Peña, 2009). Entre los daños histopatológicos en animales

que padecieron leptospirosis, Suárez y col., (2005) describen en las lesiones macroscópicas la presencia de una ictericia difusa general, debido a los daños en el endotelio vascular con hemorragias en las mucosas digestiva, bronquial, urinaria y pulmonar. En la superficie del riñón aparece congestión con punteado hemorrágico; en la observación microscópica se observa en el músculo estriado cambios necróticos típicos de la leptospirosis con vacuolización, hialinización e infiltración de histiocitos, granulocitos y células plasmáticas comprobándose mediante la técnica de anticuerpos fluorescentes la presencia de antígenos de leptospira (Oliva y col., 1998; Malajov y col., 2007).

En los riñones hay infiltrado inflamatorio intersticial, edema de la corteza y de la médula, observándose mediante la tinción argéntica la presencia de leptospirosas en los túbulos renales. En el hígado se observa necrosis de las células hepáticas y en los pulmones congestión, edemas y hemorragia intraalveolar. Bal (2005) reafirma la vasculitis como la lesión histopatológica más importante en riñón e hígado y los casos más intensos debido a la misma vasculitis, se observa una hemorragia generalizada en músculo esquelético, riñón, glándulas suprarrenales, pulmón, aparato digestivo y bazo.

Algunos reportes demuestran que en exámenes histopatológicos de riñones de ganado con nefritis intersticial originada por leptospirosis Yener y Keles, (2001) se observaron puntos blancos. El examen inmunohistoquímico les permitió llegar a la conclusión de que existe una relación entre la presencia de nefritis intersticial y los antígenos leptospirósicos; así también en secciones lesionadas de riñón teñidas con plata en animales con signos clínicos de la enfermedad fue confirmada la presencia de leptospirosas (Colagros y col., 2002).

Delgado y col., (2007) en estudios histopatológicos de cobayos inoculados experimentalmente con *L. interrogans* serovar Pomona; observaron en el tejido renal glomerulopatía, hemorragia e infiltración leucocitaria y necrosis multifocal del epitelio tubular, en el hígado arteritis fibrinoide en ramas de la arteria portal, las lesiones macroscópicas mostraron hemorragias petequiales en tejido subcutáneo, ictericia, esplenomegalia y hepatomegalia; utilizando técnica de inmunofluorescencia detectaron leptospirosas en el tejido del riñón y con la técnica inmunohistoquímica observaron inmunorreacción positiva en una demarcación de coloración rosada coincidiendo con los sitios señalados por la tinción de Warthen-Starry demostrando la presencia de leptospirosas en los túbulos renales (Delgado y col., 2007).

Como lesiones predominantes se encuentran una coloración ictericia del tejido subcutáneo, el aumento significativo del bazo y hemorragias en las membranas mucosas con presencia de petequias y equimosis, en los animales urémicos se presentan úlceras en las encías, lengua y labios; se observa una alteración general renal (nefritis) con una ictericia generalizada, así como lesiones hepáticas con necrosis focal (Malajov y col., 2007).

DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO

Se pueden visualizar las bacterias en muestras clínicas de sangre, orina y líquido cefalorraquídeo; mediante microscopía de campo oscuro. Las mismas se observan como formas filamentosas de espirales estrechas con extremos curvos en forma de gancho que poseen movimientos de rotación y traslación. Para ello las muestras de sangre deben ser tomadas entre 1-10 días (fase septicémica o leptospirémica) y las de orina entre la 2da y 4ta semana (fase leptospirúrica) (Céspedes, 2002).

Para el diagnóstico de la leptospirosis en humanos y animales la identificación directa de las leptospirosas es a partir de muestras de orina, sangre, líquido cefalorraquídeo ó biopsia de tejido, mediante cultivo en medio semisólido EMJH con 5 fluorouracilo incubándose a 28 °C, puede observarse en gotas situadas en laminilla excavada mediante microscopía en campo oscuro las formas móviles características (Feraud y col., 2006).

DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO

La Organización Mundial de la Salud Animal (OIE, 2006, OMS, 2008; W.H.O, 2009) ha designado la técnica de microaglutinación (MAT), la cual utiliza antígenos vivos como la técnica de referencia o técnica de oro para los estudios de diagnóstico de la leptospirosis. Esta se emplea para detectar anticuerpos leptospirósicos en el suero, permite la identificación y clasificación de los aislamientos de leptospirosas y también sirve de base para evaluar cualquier otro método serológico nuevo para el diagnóstico de la enfermedad (Ooteman y col., 2006).

Las pruebas con un antígeno recombinante LipL32 basado en un dipstick ELISA fue desarrollado en caninos por Dey y col., (2007) siendo comprobada la reacción mediante un cambio de color; al compararla con el MAT tuvo una sensibilidad de 95,9 %, especificidad de 93,8% y la efectividad fue de 94,8%. A partir de la modificación a la técnica rápida Aubiodot empleando un antígeno de *L. biflexa*, se han realizado ensayos para la identificación de anticuerpos leptospirales en sueros de caninos (García y col., 2008).

Para el diagnóstico de la leptospirosis en humanos en Cuba se ha utilizado con preferencia la Hemoaglutinación Pasiva, la cual es una prueba serológica genero-específica de alta sensibilidad (92%) y especificidad (95%) que detecta IgM empleando eritrocitos de carnero o de grupo sanguíneo O humano (Arenceibia y col., 2010; Arenceibia et al., 2011).

TÉCNICAS MOLECULARES

Las técnicas moleculares más utilizadas son las que se realizan mediante la detección de genes propios de especies patógenas o especie específica; siendo rápidas, sensibles y específicas pudiendo utilizarse para la identificación de la enfermedad en estadios tempranos de la misma. Las técnicas empleadas son: la Reacción en Cadena de la Polimerasa (RCP) la cual tiene la capacidad de amplificar de forma exponencial y específica una secuencia determinada del ADN empleando cebadores en las técnicas de Patrón de Polimorfismo de los Fragmentos de Restricción ó detectando una ubicación específica en el genoma bacteriano. Para ello se emplean dos set de primer con una especificidad de 95,2% y de 91,4%. La homologación del DNA (mayor de 70%) en experimentos de hibridación han dado 15 especies genómica (Vijayachari y Sehgal, 2006).

Otra técnica es la Hibridación de Ácidos Nucleicos ADN-ADN (HAN) que permite conocer las relaciones entre las especies de leptospirosis y realizar una reclasificación taxonómica. Sus resultados se emplean en la identificación de cepas individuales, en la prevención, control de enfermedades y estudios epidemiológicos (Xue y col., 2009; Adler y De la Peña, 2010).

SITUACIÓN EPIDEMIOLÓGICA DE LA LEPTOSPIROSIS

Un tercio de las muertes que ocurren en el mundo se deben a las enfermedades infecciosas. De forma general, éstas constituyen la primera causa de muerte, tanto en adultos como en niños. A comienzos del siglo XXI, causaron la pérdida de 5,7 millones de vidas, la mayor parte en los países en vías de desarrollo. Actualmente, son responsables de 14,9 millones de muertes al año. La mitad de estas defunciones ocurren en el tercer mundo, región donde se estima que 1 500 personas mueren por una enfermedad infecciosa sólo en una hora y de ellas más de 700 son niños menores de 5 años de edad (W.H.O., 2003a). Particularmente, las denominadas enfermedades zoonóticas muestran su ascenso a escala mundial. De forma general el 43,6% de las zoonosis tienen una distribución universal. De ellas, en África y Asia se reconocen el 63,3%, en América del Sur y Europa un 56%, en América del Norte el 60% y en América Central y el Caribe el 50%. La leptospirosis constituye la zoonosis de mayor importancia en América y específicamente para América Latina, región donde es objeto de vigilancia y notificación obligatoria (W.H.O., 2009; CDC, 2009).

En la primera reunión de la Asociación Internacional de Leptospirosis en Nantes, Francia, en 1996, se inició un proyecto para estimar el impacto mundial de la leptospirosis humana (Van, 2006; W.H.O., 2009; CDC, 2009), con el objetivo de registrar los datos reales de la morbilidad y mortalidad de esta enfermedad. Se estima que la incidencia varía de 0,1 a 1 x 100 000 habitantes/año en las áreas templadas, a por encima de 100 x 100 000/año durante las epidemias en los trópicos. Además se calcula que 300 000 a 500 000 casos severos ocurren cada año, con una proporción de casos fatales mayor al 30% (Victoriano, 2009; W.H.O., 2009; CDC, 2009).

El estudio de la epidemiología de esta zoonosis resulta difícil y se considera una de las enfermedades infecciosas donde el control de un brote epidémico es muy complejo (W.H.O., 2003b). Esta afirmación se fundamenta primariamente en factores tales como: el clima, la densidad de población y el grado de contacto entre los reservorios y huéspedes accidentales, variables que intervienen en su presentación, y dificultan la extrapolación entre las diferentes regiones geográficas, situación que obliga al conocimiento individual de cada continente, país, región o zona. En segunda lugar se debe mencionar lo problemático que resulta reconocer la enfermedad desde el punto de vista clínico por lo que se hacen necesarios medios diagnósticos certeros. El diagnóstico de la leptospirosis está muy atrasado con respecto a la mayoría de los patógenos; las técnicas disponibles son costosas y en consecuencia no está disponible para las mayorías.

La leptospirosis se encuentra en todo el mundo, particularmente en las regiones tropicales y subtropicales dónde las condiciones medioambientales favorecen su supervivencia y transmisión. En muchos países se carece de datos epidemiológicos fiables, de manera que se hace muy difícil evaluar con precisión la carga global de esta enfermedad; pero se conoce que las áreas de mayor riesgo son: la India, Sri-Lanka, Tailandia, Vietnam, Malasia, China, Seychelles, el Caribe, Brasil, y las Islas del Pacífico. Australia, Nueva Zelanda, y Hawaii por su parte tienen algunas de las incidencias más altas notificadas en los países desarrollados (Ellis y col., 2008; Colleen, 2010).

Es un mito perjudicial muy difundido que la leptospirosis no está limitada a los países en vías de desarrollo. Artículos retrospectivos sobre su epidemiología se describen en Irlanda, Dinamarca, Alemania e Italia (Pappas y col., 2008; Vijayachari y col., 2008; Cruz y col., 2009; Monahan y col., 2009). Todos estos autores señalan la importancia de la leptospirosis como uno de los problemas de salud pública que requiere de grandes esfuerzos gubernamentales para la vigilancia y el control del agente causal.

BIBLIOGRAFÍA

1. ADLER B, DE LA PEÑA M. Leptospira and Leptospirosis. *Vet Microbiol* 2009; 2:4382-4392.
2. ADLER B, DE LA PEÑA M. Leptospira In: Gyles, CL.; Prescott, JF.; Songer, G.; Thoen, CO. *Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals* 4.Ed. cap 28. Wiley-Blackwell; 2010.p.527-547.

3. ARENCIBIA DF, BATISTA N, FERNÁNDEZ K, ROSARIO LA, PARRA C, BLAÍN K, GARCÍA ET AL. Impacto de los cambios realizados en la etapa de multiplicación celular durante la obtención de la Sustancia Sensibilizante de Eritrocitos (SSE) utilizada en el diagnóstico serológico de la Leptospirosis. *ARS Pharmaceutica* 2011; 52(4):23-28.
4. ARENCIBIA DF, BATISTA N, ROSARIO LA, BLAIN K, SOLÍS RL. Factibilidad de la utilización del ASE en el ensayo de HAI en el diagnóstico rápido de Leptospirosis en los animales. *Rev Vet Arg* 2010; 27(268):1-12.
5. ASUTHKAR S, VELINENI S, STADLMANN J, ALTMANN F, SRITHARAN M. Expression and characterization of an iron-regulated hemin-binding protein, HbpA, from *Leptospira interrogans* serovar Lai. *Infect. Immun* 2007; 75(9):4582-4591.
6. ATHANAZIO D, SILVA E, SANTOS C, ROCHA G. *Rattus norvegicus* as a model for persistent renal colonization by pathogenic *Leptospira interrogans*. *Acta Tropica* 2008; 105:176-180.
7. AYANEGUI MA, WILSON PR, MACKINTOSH CG, COLLINS JM, HEUER C, MIDWINTER AC ET AL. Leptospirosis in farmed deer in New Zealand: A review. *NZ Vet. J* 2007; 55(3):102-108.
8. BAL AM. Unusual clinical manifestation of leptospirosis. Department of Medical Microbiology. Aberdeen Royal Infirmary, Scotland, United Kingdom Symposium 2005; 51(3):179-183.
9. BALLARD S, GO A, SEGERS R, ADLER B. Molecular analysis of the dnaK locus of *Leptospira interrogans* serovar Copenhageni. *Gene* 1998; 216:21-29.
10. BATISTA N, ARENCIBIA DF, ROSARIO LA, JIRÓN W, DUTTMAN CH. Perfil antigénico celular de cepas aisladas de *Leptospira* en León y Chinandega, Nicaragua. *ARS Pharmaceutica* 2011; 52(4):12-17.
11. BISWAS D, ROY S, VIJAYACHARI P, SUGUNAN A, NARARAJASEENIVASAN K, SEHGAL S. Comparison of immunoreactive proteins of commonly circulating serogroups of *Leptospira* in Andaman Islands. *India J Med Res* 2005; 121:151-158.
12. BORRERO R, GONZÁLEZ A, DEL PUERTO C, BATISTA N, VALDÉS Y. Conservación de cepas vacunales de *Leptospira* a -70 °C. *Rev Cub Med Trop* 2006; 58(1):50-55.
13. BRANGER C, SONRIER C, CHATRENET B, KLONJKOWSKI B, RUVOEN N, AUBERT A ET AL. Identification of the hemolysis-associated protein 1 as a cross-protective immunogen of *Leptospira interrogans* by adenovirus-mediated vaccination. *Infect Immun* 2001; 69(11):6831-6838.
14. BRETT DM, LIPNICK RJ. Antibiotic prophylaxis for leptospirosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2009; 3:42.
15. BRIHUEGA B. Leptospirosis: Diagnóstico y Tipificación de leptospirosis. En: Cacchione, R.; Durlach, R. y Martino, P. (ed), *Temas de Zoonosis IV*. Asociación Argentina de Zoonosis, Buenos Aires, Argentina; 2008.p.221-227.
16. BULACH D, ZUERNER R, WILSON P, SEEMANN T, MCGRATH A, CULLEN P ET AL. Genome reduction in *Leptospira borgpetersenii* reflects limited transmission potential. *Proceed Nat Acad Sciences* 2006; 103:14560-14565.
17. CACHAY E, VINETZ J. A global research agenda for Leptospirosis. *J Postgrad Med* 2005; 51:174-178.
18. CDC. Leptospirosis 2009 [19/06/2009]. Disponible en: http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/leptospirosis_g.htm. Consultado Diciembre 2009.p.27-38.
19. CÉSPEDES M. Leptospirosis Enfermedad Zoonótica Emergente. *Rev Cub Med Exp Salud Pú* 2002; 22(4):33-39.
20. CHIERAKUL W, TIENADAKUL P, SUPUTTAMONGKOL Y, WUTHIEKANUN V, PHIMDA K, LIMPAIBOON R ET AL. Activation of the coagulation cascade in patients with leptospirosis. *Clin Infect Dis* 2008; 46:254-260.
21. CHOY HA, KELLEY MM, CHEN TL, MOLLER AK, MATSUNAGA J, HAAKE DA. Physiological osmotic induction of *Leptospira interrogans* adhesion: LigA and LigB bind extracellular matrix proteins and fibrinogen. *Infect. Immun* 2007; 75(5):2441-2450.
22. CINCO M, DOMENIS R, PERTICARARI S, PRESANI G, MARANGONI A, BLASI E. Interaction of leptospires with murine microglial cells. *New Microbiol* 2006; 29(3):193-199.
23. COLAGROSS AM, MAZET JA, GUILLAND FM, MELLER MA, HIETALA S. Diagnoses and seroprevalence of leptospirosis in California sea lion from coastal California. *J Wildl Dis* 2002; 38:7-13.
24. COLLEEN L, LEE S, PHILIP W. Leptospirosis: An emerging disease in travellers. *Travel Med Infect Dis* 2010; 20:1-7.
25. CORNEY B, SLACK A, SYMONDS M, DOHNT M, MCCLINTOCK C, GOWAN M ET AL. *Leptospira weilii* serovar Topaz, a new member of the Tarassovi serogroup isolated from a bovine source in Queensland, Australia. *Int J Syst Evol Microbiol* 2008; 58:2249-2252.
26. CRODA J, FIGUEIRA C, WUNDER E, SANTOS C, REIS M, KO AI ET AL. Targeted mutagenesis in pathogenic *Leptospira*: disruption of the LigB gene does not affect virulence in animal models of leptospirosis. *Infect Immun* 2008; 76:5826-5833.
27. CRUZ LS, VARGAS R, LOPES AA. Leptospirosis: a worldwide resurgent zoonosis and important cause of acute renal failure and death in developing nations. *Ethn Dis* 2009; 19(Suppl 1):37-41.
28. DEANNA S, DEVESON L, CULLEN PA, MIRANDA L, SRIKRAM A, RASANA W ET AL. Recombinant LipL32 and LigA from *Leptospira* are unable to stimulate protective immunity against leptospirosis in the hamster model. *Vaccine* 2011; 29(18):3413-3418.
29. DELGADO F, BRIHUEGA B, VENZANO A, FUNES D, BLANCO F, AUTERI C ET AL. Adaptación de un protocolo de histoquímica para la detección de *Leptospira pp.* en muestras de tejido fijado en formaldehído. *Rev Cub Med Trop* 2007; 59(1):14-18.
30. DEY S, MOHAN CM, RAMADASS P, NACHIMUTHU K. Recombinant antigen-based dipstick ELISA for a diagnosis of leptospirosis in dog. *Vet Rec* 2007; 160(6):166-168.
31. DONG H, HU Y, XUE F, SUN D, OJCIUS D, MAO Y ET AL. Characterization of the ompL1 gene of pathogenic *Leptospira* species in China and cross-immunogenicity of the OmpL1 protein. *BMC Microbiol* 2008; 8:223-227.
32. ELLIS T, IMRIE A, KATZ A, EFFLER P. Underrecognition of leptospirosis during a dengue fever outbreak in Hawaii, 2001-2002. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2008; 8(4):541-547.

33. FAINE S, ADLER B, BOLIN C, PEROLAT P. *Leptospira* and leptospirosis. 2nd ed. Melbourne: Edit MediSci; 1999.p.69-75.
34. FENG C, LI Q, ZHANG X, DONG K, HU B, GUO X. Immune strategies using single-component LipL32 and multi-component recombinant LipL32-41-OmpL1 vaccines against leptospira Braz. J Med Biol Res 2009; 42(9):796-803.
35. FERAUD D, CUETO J, CHAMIZO E. Aislamiento de *Leptospira Canicola* en hemocultivo: análisis epidemiológico. REDVET 2006; 6:60-66.
36. GARCÍA RL, MACHADO H, ABELEDO MA, FERAUD D. Utilización de una técnica serológica rápida para el diagnóstico de la leptospirosis canina. REDVET 2008; 1(7):25-36.
37. GUERRA MA. Leptospirosis. J Am Vet Med Assoc 2009; 234(4):472-478.
38. HOKE DE, EGAN S, CULLEN PA, ADLER B. LipL32 Is an extracellular matrix – interacting protein of *Leptospira* spp. and *Pseudoalteromonas tunicata*. Infect Immun 2008; 76(5):2063-2069.
39. HSIE W, CHANG Y, CHEN C, PAN M. Omp52 is a growth-phase-regulated outer membrane protein of *Leptospira santarosai* serover *shermani*. FEMS Microbiol Lett 2005; 243(2):339-345.
40. HUNG CC, CHANG CT, TIAN YC, WU MS, YU CC, PAN MJ ET AL. Leptospiral membrane proteins stimulate pro-inflammatory chemokines secretion by renal tubule epithelial cells through toll – like receptor 2 and p38 mitogen activated protein kinase. NDT 2006; 21:898-910.
41. ICSP. International Committee on Systematics of Prokaryotes. Subcommittee on the taxonomy of Leptospiraceae. Int J Syst Evol Microbiol 2008; 58:1049-1050.
42. KO A, GOARANT C, PICARDEAU M. *Leptospira*: the dawn of the molecular genetics era for an emerging zoonotic pathogen. Nature 2009; 7:736-747.
43. LEVETT P, MOREY R, GALLOWAY R, STEIGERWALT A. *Leptospira broomii* sp. nov, isolated from humans with leptospirosis. Int J Syst Evol Microbiol 2006; 56:671-673.
44. LEVETT P. Leptospirosis. Clin Microbiol Rev 2001; 14(2):296-326.
45. MAHAJAN S, CHHABRA D. Leptospirosis: A Re-emerging Disease. Veterinary World 2008; 1(6):182-185.
46. MALAJOV Y, PANIN A, SOVOLIOVA G. Leptospirosis de los animales. 3ra. ed. La Habana: Editorial Ciencias Médicas, Cuba; 2007.p.24-53.
47. MANEEWATCH S, TAPCHASRI P, SAKOLVAREE Y, KLAYSING B, TONGTAWE P. OmpL1 DNA vaccine cross-protects against heterologous *Leptospira* spp. Challenge. Asian Pac J Allergy Immunol 2007; 25(1):75-82.
48. MAROTTO P, KO A, MURTA C, SEGURO F, PRADO R, BARBOSA M ET AL. Early identification of leptospirosis-associated pulmonary hemorrhage syndrome by use of a validated prediction model. J Infec 2010; 60:218-223.
49. MATSUNAGA J, LO M, BULACH DM, ZUERNER RL, ADLER B, HAAKE DA. Response of *Leptospira interrogans* to physiologic osmolarity: relevance in signaling the environment-to-host transition. Infect Immun 2007; 75:2864-2874.
50. MATSUNAGA J, YOUNG T, BARNETT J, BARNETT D, BOLIN C, HAAKE D. Novel 45-kilodalton leptospiral protein that is processed to a 31-kilodalton growth-phase-regulated peripheral membrane protein. Infect Immun 2002; 70(1):323-334.
51. MCBRIDE A, ATHANAZIO D, REIS M, KO A. Leptospirosis. Curr Opin Infect Dis 2005; 18:376-386.
52. MONAHAN AM, MILLER IS, NALLY JE. Leptospirosis: risks during recreational activities. J Appl Microbiol 2009; 107(3):707-716.
53. MURRAY G, ELLIS K, LO M, ADLER B. *Leptospira interrogans* requires a functional heme oxygenase to scavenge iron from hemoglobin. Microb Infect 2008; 10:791-797.
54. MURRAY G, SRIKRAM A, HENRY R, PUAPAIROJ A, SERMSWAN R, ADLER B ET AL. *Leptospira interrogans* requires heme oxygenase for disease pathogenesis. Microb Infect 2009; 11:311-314.
55. MURRAY GL, SRIKRAM A, HOKE DE, WUNDER EA, HENRY R, LO M ET AL. Major surface protein LipL32 is not required for either acute or chronic infection with *Leptospira interrogans*. Infect Immun 2009a; 77(3):952-958.
56. NACHEGA JB, BOTTIEAU E, ZECH F. Travel-acquired scrub typhus: emphasis on the differential diagnosis, treatment, and prevention strategies. J Travel Med 2007; 14(5):352-355.
57. NALLY J, CHOW E, FISHBEIN M, BLANCO D, LOVETT M. Changes in lipopolysaccharide O antigen distinguishes acute versus chronic *Leptospira interrogans* infections. Infect Immun 2005; 73(6):3251-3260.
58. NALLY JE, WHITELEGGE JP, BASSILIAN S, BLANCO DR, LOVETT MA. Characterization of the outer membrane proteome of *Leptospira interrogans* expressed during acute lethal infection. Infect Immun 2007; 75:766-773.
59. NARANJO M, SUÁREZ M, FERNÁNDEZ C, AMADOR N, GONZÁLEZ M, BATISTA N ET AL. Study of a Leptospirosis Outbreak in Honduras Following Hurricane Mitch and Prophylactic Protection of the vax-SPIRAL® Vaccine. MEDICC Review 2008; 10(3):38-42.
60. NAVARRO F. La Fiebre Biliosa Grave de los países cálidos no es la Fiebre Amarilla [Tesis doctoral]. Annal Acad Cienc Med Fis Nat. Habana; 1968.p.58-63.
61. OIE. Manual of standars for diagnostic test a vaccines. Paris; 2006.p.186-190.
62. OLIVA R, INFANTE J, GONZÁLEZ M, GONZÁLEZ I, FARIÑAS M. Comparación clínico-patológica de la leptospirosis, en hámster sirio o dorado y el curiel Duncan Hartley mediante la infección experimental con tres serovares de *L. interrogans*. VacciMonitor 1998; 7(5):8-13.
63. OMS. Leptospirosis humana: guía para el diagnóstico, vigilancia y control / Organización Mundial de la Salud; traducción del Centro Panamericano de Fiebre Aftosa. – Rio de Janeiro: Centro Panamericano de Fiebre Aftosa – VP/OPS/OMS. (Serie de Manuales Técnicos, 12), Brasil; 2008.p.127.
64. OOTEMAN MC, VAGO AR, KOURY MC. Evaluation of MAT, IgM ELISA and PCR methods for the diagnosis of human leptospirosis. J Microbiol Methods 2006; 65:247-257.

65. OPS. Organización Panamericana de la Salud. 14a Reunión Interamericana a nivel Ministerial en Salud y Agricultura. Las enfermedades desatendidas en las poblaciones postergadas, con énfasis en las zoonosis. 2005; Disponible en: URL: <http://www.paho.org/spanish/ad/dpc/vp/rimsa14-18-s.pdf>. Consultado Enero, 2009.
66. OPS. Organización Panamericana de la Salud. Enfermedades desatendidas: Enfermedades de la pobreza. 2009; Disponible en: URL: <http://www.paho.org/Spanish/AD/DPC/CD/psit-nd-poster.htm>. Consultado Enero, 2009.
67. PALANIAPPAN RU, RAMANUJAM S, CHANG YF. Leptospirosis: pathogenesis, immunity, and diagnosis. *Curr Opin Infect Dis* 2007; 20(3):284-292.
68. PAPPAS G, PAPADIMITRIOU P, SIOZOPOULOU V, CHRISTOU L, AKRITIDIS N. The globalization of leptospirosis: worldwide incidence trends. *Int J Infect Dis* 2008; 12(4):351-357.
69. PICARDEAU M, BULACH D, BOUCHIER C, ZUERNER R, ZIDANE N, WILSON P. Genome sequence of the saprophyte *Leptospira biflexa* provides insights into the evolution of *Leptospira* and the pathogenesis of leptospirosis. *PLoS ONE* 2008; 3:1599-1607.
70. QUE N, RIBEIRO A, KALB S, COTTER R, BULACH D, ADLER B ET AL. A methylated phosphate group and four amide-linked acyl chains in *Leptospira interrogans* Lipid A: The membrane anchor of an unusual lipopolysaccharide that activates TLR2. *J Biol Chem* 2004; 279:25420-25429.
71. REIS RB, RIBEIRO GS, FELZEMBURGH RD. Impact of environment and social gradient on *Leptospira* infection in urban slums. *PLoS Negl Trop Dis* 2008; 2(4):228.
72. RISTOW P, BOURHY P, MCBRIDE F, FIGUEIRA C, HUERRE M, AVE P ET AL. The OmpA-Like protein Loa22 is essential for leptospiral virulence. *PLoS Pathogens* 2007; 3:90-97.
73. ROCHA F, SPICHLER A, ATHANAZIO D. Leptospirosis-associated disturbances of blood vessels, lungs and hemostasis. *Acta Tropica* 2010; 115:155-162.
74. ROSARIO LA, BATISTA N, ARENCIBIA DF, VALDÉS BY, JIRÓN W, DUTTMAN CH. Efficacy of Leptospiral vaccine (vax-SPIRAL®) against challenge with strains isolated from leptospirosis epidemic in Nicaragua using the hamster as biomodel. *Veterinary World* 2012; 5(1):5-12.
75. SANDOW K, RAMÍREZ W. Leptospirosis. *REDVET* 2005; 6:26-29.
76. SEHGAL SC. Epidemiological patterns of leptospirosis. *Indian J Med Microbiol* 2006; 24(4):310-311.
77. SEIXAS F, SILVA E, HARTWIG D, CERQUEIRA G, AMARAL M, FAGUNDES M ET AL. Recombinant *Mycobacterium bovis* BCG expressing the LipL 32 antigen of *Leptospira interrogans* protects hamsters from challenge. *Vaccine* 2007; 26:88-95.
78. SILVA E, CERQUEIRA G, SEYFFERT N, SEIXAS F, HARTWIG D, BROD C. *Leptospira noguchii* and human and animal leptospirosis, southern Brazil. *Emerg Infect Dis* 2009; 15(4):621-623.
79. SILVA E, SANTO C, ATHANAZIO D, SEYFFERT N, SEIXAS F, CERQUEIRA GM ET AL. Characterization of virulence of *Leptospira* isolates in hamster model. *Vaccine* 2008; 26:3892-3896.
80. SLACK A, KALAMBAHETI T, SYMONDS M, DOHNT M, GALLOWAY R, STEIGERWALT A. *Leptospira wolffii* sp. nov, isolated from a human with suspected leptospirosis in Thailand. *Int J Syst Evol Microbiol* 2008; 58:2305-2308.
81. SLACK A, KHAIRANI-BEJO S, SYMONDS M, DOHNT M, GALLOWAY R, STEIGERWALT A. *Leptospira kmetyi* sp. nov, isolated from an environmental source in Malaysia. *Int J Syst Evol Microbiol* 2009; 59:705-708.
82. STEVENSON B, CHOY HA, PINNE M, ROTONDI ML, MILLER MC, DEMOLL E ET AL. *Leptospira interrogans* endostatin-like outer membrane proteins bind host fibronectin, laminin and regulators of complement. *PLoS ONE* 2007; 2(11):1188-1195.
83. STODDARD RA, GEE JE, WILKINS PP. Detection of pathogenic *Leptospira* spp. through TaqMan polymerase chain reaction targeting the LipL32 gene. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2009; 64(3):247-255.
84. SUÁREZ M, MORERA J, DÍAZ C, SÁNCHEZ JM. Brotes de leptospirosis animal y humana en la provincia Ciego de Ávila. *Rev Cub Med Trop* 2005; 57(1):79-80.
85. TEPSTRA W, HARTSKEERL R, SMITS H, KORVER H. International Course in Laboratory Techniques for the Diagnosis of Leptospirosis. Royal Tropical Institute, Amsterdam; 2006.p.1-124.
86. TRUEBA G, ZAPATA S, MADRID K, CULLEN P, HAAKE D. Cell aggregation: a mechanism of pathogenic *Leptospira* to survive in fresh water. *Intern Microbiol* 2004; 7:35-40.
87. TURHAN V, POLAT E, ATASOYU EM, OZMEN N, KUCUKARDALI Y, CAVUSLU S. Leptospirosis in Istanbul, Turkey: A wide spectrum in clinical course and complications. *Scand Journal of Infect Dis* 2006; 38(10):845-852.
88. UHLENHUTH P, FROMME W. Experimentelle Untersuchungen über die sogenannte Weilsche Krankheit (ansteckende Gelbsucht). *Med Klin* 1915; 44:1202-1203.
89. VALVERDE M, RAMÍREZ J, MONTES DE OCA L, GORIS M, AHMED N, HARTSKEERL R. A new *Leptospira* serovar of serogroup Javanica, isolated from a patient in Costa Rica. *Infect Genet Evol* 2008; 8:529-533.
90. VAN B. Information concernant la Leptospirose. *Medisid* 2006; 58:36-39.
91. VANASCO N, SEQUEIRA G, DALLA ML, FUSCO S, SEQUEIRA MD, ENRÍA D. Descripción de un brote de leptospirosis en la ciudad de Santa Fe Argentina. *Rev Panam Salud Púb* 2000; 7(1):58-67.
92. VICTORIANO A, SMYTHE L, GLORIANI-BARZAGA N, CAVINTA L, KASAI T, LIMPAKARNJANARAT K ET AL. Leptospirosis in the Asia Pacific Region. *BMC Infect Dis* 2009; 9(1):147-155.
93. VIJAYACHARI P, SEHGAL SC. Advance in the laboratory diagnosis of leptospirosis and characterisation of leptospirosis. *Indian J Med Microbiol* 2006; 24(4):320-322.
94. VIJAYACHARI P, SUGUNAN AP, SHRIRAM AN. Leptospirosis: an emerging global public health problem. *J Biosci* 2008; 33(4): 557-569.
95. VIVIAN JP, BEDDOE T, MCALISTER AD, WILCE MCJ, ZAKER-TABRIZI L, TROY S ET AL. Crystal structure of LipL32, the most abundant surface protein of pathogenic *Leptospira* spp. *J Mol Biol* 2009; 387(5):1229-1238.

96. WANG Z, JIN L, WEGRZYN A. Leptospirosis vaccines. *Microb Cell Fact* 2007; 6:39-49.
97. WHO. National Leptospirosis Surveillance Report Number 17. January- December 2008: WHO/FAO/OIE Collaborating Centre for Reference and Research on Leptospirosis [en línea]. September 2009. Disponible en: http://www.health.qld.gov.au/qhcss/documents/lepto/08_annual.pdf;2009. Consultado Enero, 2010.
98. WHO. World Health Organization. Human leptospirosis: Guidance for diagnosis, surveillance and control. Malta; 2003b.p.13-15.
99. WHO. World Health Organization. Who Guidelines on Non-clinical Evaluation of Vaccines; 2003a.p.16-18.
100. XUE F, YAN J, PICARDEAU M. Evolution and pathogenesis of *Leptospira* spp.: lessons learned from the genomes. *Microb Infect* 2009; 11:328-333.
101. YANG CW, HUNG CC, WU MS, TIAN YC, CHANG CT, PAN MJ ET AL. Toll-like receptor 2 mediates early inflammation by leptospiral outer membrane proteins in proximal tubule cells. *Kidney International* 2006; 69:815-822.
102. YENER Z, KELES H. Immunoperoxidase had histopathology examinations of leptospiral nephritis in cattle. *J Vet Med. A Physiol Pathol Clin Med* 2001; 48:441-448.

Volver a: [Zoonosis](#)